

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
14. März 2002 (14.03.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 02/21115 A1

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: G01N 27/447, B01L 3/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE01/03324

(22) Internationales Anmeldedatum: 3. September 2001 (03.09.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
100 44 333.8 7. September 2000 (07.09.2000) DE  
101 04 957.9 3. Februar 2001 (03.02.2001) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): GESIM GESELLSCHAFT FÜR SILIZIUM-MIKROSYSTEME MBH [DE/DE]; Rossendorfer Technologiezentrum, Bautzner Landstrasse 45, 01454 Rosserkmannsdorf (DE).

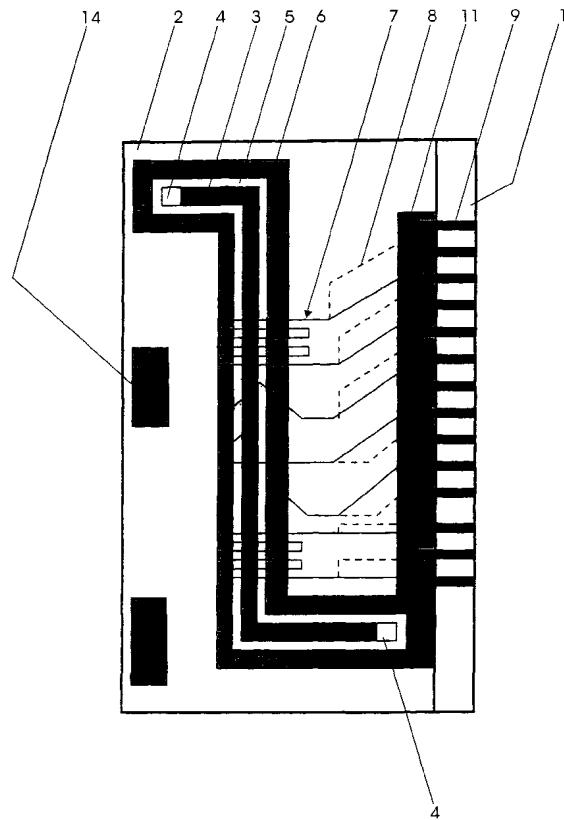
(72) Erfinder; und  
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): HOWITZ, Steffen [DE/DE]; Wormser Strasse 58, 01309 Dresden (DE). FUHR, Günther [DE/DE]; Kavalierstrasse 15, 10187 Berlin (DE).

(74) Anwalt: LIPPERT, STACHOW, SCHMIDT & PARTNER; Krenkelstrasse 3, 01309 Dresden (DE).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING A 3-D MICRO FLOW CELL AND A 3-D MICRO FLOW CELL

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM HERSTELLEN EINER 3-D-MIKRODURCHFLUSSZELLE UND 3-D-MIKRODURCHFLUSSZELLE



WO 02/21115 A1

gleichzeitig der Strömungskanal (3) abgedichtet wird.

(57) Abstract: The invention relates to a method for producing a 3-D micro flow cell and to a micro flow cell produced according to said method. The aim of the invention is to provide a method that is cost-effective and that achieves particularly constant geometric parameters. According to the invention, the flow channel (3), a spacer I defining both sides of said channel (5), and additional spacers (14) consisting of a substantially non-compressible or curable material of a predetermined depth are applied at least to the lower substrate (1). Once applied, said spacers and flow channel are irreversibly fixed to the lower substrate (1) or upper substrate. A pasty adhesive, acting as a spacer-II (6), is applied with a uniform thickness around the outer periphery of spacer-I (5) and the upper substrate (2) is subsequently positioned on the lower substrate (1) and joined thereto by force, heat or light, thus simultaneously sealing the flow channel (3).

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle und eine nach dem Verfahren hergestellte Mikrodurchflusszelle. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren aufzuzeigen, welches kostengünstig realisiert werden kann und mit dem insbesondere gleichbleibende geometrische Parameter realisiert werden können. Erfindungsgemäß werden wenigstens auf dem unteren Substrat (1) den Strömungskanal (3) beidseits desselben definierende Spacer-I (5) sowie zusätzliche Abstandshalter (14) aus einem im wesentlichen nicht kompressiblen Material oder härzbaren Material vorgegebener Höhe aufgebracht, die nach dem Aufbringen mit dem unteren Substrat (1) bzw. oberen Substrat irreversibel fest verbunden werden. Ausserhalb des Strömungskanals wird ein pastöser Klebstoff als Spacer-II (6), den Spacer-I (5) parallel umfassend, mit gleichmässiger Dicke aufgetragen und anschliessend das obere Substrat (2) auf dem unteren Substrat (1) positioniert und unter Kraft-, Wärme oder Lichteinwirkung mit diesem verbunden, wobei



(81) **Bestimmungsstaaten (national):** JP, US.

— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

**Veröffentlicht:**

— mit internationalem Recherchenbericht

**Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle und  
3-D-Mikrodurchflusszelle**

5

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle, bestehend aus einem unteren und einem oberen Substrat, zwischen denen ein Strömungskanal angeordnet ist, den eine mit Außenkontakte verbundene Elektrodenstruktur durchdringt, wobei wenigstens eines der Substrate zunächst mit einer Leitbahn- und Elektrodenstruktur und an den Enden des Strömungskanales mit Durchkontaktierungen zum Anschluss eines Flüssigkeitszu- und -ablaufes versehen wird. Die Erfindung betrifft ferner eine mit dem Verfahren hergestellte 3-D-Mikrodurchflusszelle.

Derartige 3-D-Mikrodurchflusszellen werden beispielsweise als Zellmanipulatoren für die Handhabung und optische Analyse dielektrischer biologischer Partikel, insbesondere von Zellen und/oder Bakterien bzw. Viren, verwendet. Zu diesem Zweck sind die Mikrodurchflusszellen mit einem Strömungskanal ausgestattet, an dessen Enden ein oder mehrere Flüssigkeitszu- und -abläufe vorgesehen sind. Diese Flüssigkeitszu- und -abläufe werden beispielsweise durch sich senkrecht zum Strömungskanal erstreckende Durchkontaktierungen hergestellt. Die Höhe des Flüssigkeitskanals liegt in der Regel im Bereich von wenigen Mikrometern, wobei der Strömungskanal oben und unten durch Glassubstrate und/oder Siliziumsubstrate und seitlich durch entsprechende Kanalwandungen begrenzt wird. Um einzelne Zellen an einem vorgegebenen Ort innerhalb des Flüssigkeitskanals "freischwebend" fixieren zu können, befinden sich im Flüssigkeitskanal Elektroden, die beim Anlegen einer elektrischen Spannung ein elektrisches Feld erzeugen. Die elektrostatisch fixierte Zelle kann dann durch eine geeignete Beleuchtung beleuchtet und mittels eines Mikroskopes beobachtet werden.

Um derartige dreidimensionale Strukturen realisieren zu können, sind verschiedene Technologien allgemein bekannt geworden. So kann z. B. ein Glassubstrat einseitig nasschemisch geätzt 5 werden, um einen Strömungskanal in diesem auszubilden und nachfolgend mittels Diffusionsschweißen mit einem zweiten Glassubstrat als Deckelement verbunden werden. Die für das Handling von Zellen oder biologischen Partikeln erforderlichen Elektroden werden vorher auf das erste und/oder zweite Glas- 10 substrat mittels bekannter Verfahren der Fotolithografie aufgebracht und das zweite Glassubstrat nachfolgend Face-down auf das untere Glassubstrat montiert.

Die Technologie des Diffusionsschweißens ist allerdings relativ 15 teuer und die Möglichkeiten der in der Regel isotropen Glasstrukturierung sind begrenzt. Ein weiterer Nachteil ist darin zu sehen, dass nur relativ grobe Elektrodenstrukturen auf die strukturierten Glasoberflächen aufgebracht werden können. Um ein exaktes Handling einzelner Zellen oder biologischer 20 Partikel realisieren zu können, ist jedoch eine äußerst präzise geometrische Ausbildung der Elektroden erforderlich, um diese Partikel elektrostatisch am gewünschten Ort berührungslos manipulieren und festhalten zu können.

25 Eine andere Technologie wird von Müller/Gradl/Howitz/Shirley-/Schnelle/Fuhr in der Zeitschrift "BIOSENSORS & ELECTRONICS", Heft 14 (1999), Seite 247 bis 256 beschrieben. Hierbei handelt es sich um die Anwendung der rein manuellen Epoxydharzklebetechnik, wobei zunächst ein Polymer-Spacer auf eine Glasoberfläche 30 prozessiert wird, die vorher mit Platinelektroden und elektrischen Leitbahnen versehen worden ist. Anschließend wird das Glassubstrat mit einem Kunstharz, z.B. Epoxydharz, als Klebstoff außerhalb der Polymerstruktur bestrichen und danach darauf ein zweites Glas, welches ebenfalls mit Elektroden 35 versehen ist, positioniert und der Verbund nachfolgend ver-

presst. Dieser Montageschritt wird üblicherweise mit einen sogenannten Die-Bonder (Chip-Bonder) ausgeführt.

Schwierigkeiten sind hier darin zu sehen, dass es problematisch ist, Mikrodurchflusszellen herzustellen, die immer exakt gleiche geometrische Abmessungen aufweisen und bei denen mit Sicherheit während des Montageprozesses kein Klebstoff in den Strömungskanal eindringt, der diesen teilweise verengen würde. Die Effizienz dieses Schrittes ist daher äußerst mangelhaft und für eine Massenproduktion nicht geeignet.

Weiterhin ist eine sogenannte Underfiller-Technik bekannt geworden, bei der ein Polymer-1 (Dicklack) auf das mit Elektroden versehene Glassubstrat aufgeschleudert wird, wobei die Dicke des aufgeschleuderten Polymers durch die Höhe des vorgesehenen Kanals vorgegeben wird. Aus diesem Polymer wird dann das Positiv-Kanalsystem strukturiert, d. h. der übrige Dicklack wird während dieser Fotostrukturierung vollständig entfernt. Anschließend wird dann das zweite Glassubstrat zum ersten Glassubstrat justiert und aufgepresst. Diese auf diese Weise gewonnene 3-D-Anordnung wird durch seitliches Einströmen eines kriechfähigen Klebers (Underfiller), einem Polymer-2, fixiert, wonach das Kanalsystem im Polymer-1 mit einem Lösungsmittel wieder ausgewaschen wird. Dabei darf das Lösungsmittel das Polymer-2 nicht angreifen. Besonders nachteilig ist hier, dass auf diesem Wege im Kanal keine inneren Strömungselemente herstellbar sind, weil diese vom Polymer-2 nicht erreicht werden können. Außerdem ist diese Technik äußerst zeitaufwändig und hinsichtlich der Strukturauflösung begrenzt.

Der Erfindung liegt nunmehr die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle aufzuzeigen, welches kostengünstig realisiert werden kann und mit dem insbesondere gleichbleibende geometrische Parameter realisiert werden können. Der Erfindung liegt ferner die Aufgabe zugrunde,

eine 3-D-Mikrodurchflusszelle zu schaffen, die mit dem erfindungsgemäßen Verfahren kostengünstig hergestellt werden kann.

5 Die der Erfindung zugrunde liegende Aufgabe wird bei einem Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle, bestehend aus einem unteren und einem oberen Substrat, zwischen denen ein Strömungskanal angeordnet ist, den eine mit Außenkontakten verbundene Elektrodenstruktur durchdringt, wobei 10 wenigstens eines der Substrate zunächst mit einer Leitbahn- und Elektrodenstruktur und an den Enden des Strömungskanales mit Durchkontaktierungen zum Anschluss von Flüssigkeitszu- und -abläufen versehen wird, dadurch gelöst, dass wenigstens auf dem unterem Substrat den Strömungskanal beidseits desselben 15 definierende Spacer-I sowie zusätzliche Abstandshalter aus einem im wesentlichen nichtkompressiblen Material oder härtbaren Material vorgegebener Höhe aufgebracht werden, die nach dem Aufbringen mit dem unteren bzw. oberen Substrat irreversibel fest verbunden werden, dass außerhalb des 20 Strömungskanales ein pastöser Klebstoff als Spacer-II gleichmäßiger Dicke aufgetragen wird und dass anschließend das obere Substrat auf dem unteren Substrat positioniert und unter Kraft- und Wärmeeinwirkung mit diesem verbunden wird, wobei gleichzeitig der Strömungskanal abgedichtet wird.

25

Dieses einfach zu realisierende Verfahren gewährleistet einerseits eine äußerste Präzision der geometrischen Abmessungen des Strömungskanales und andererseits eine vollständige und einfache Abdichtung desselben, ohne dass die Gefahr besteht, dass Klebstoffmengen in den Strömungskanal eindringen, die diesen verengen könnten.

30 In einer ersten Fortführung der Erfindung wird der Spacer-II unmittelbar neben dem Spacer-I, diesen parallel umfassend, aufgetragen, wobei die Dicke des Spacers-II vor der Montage

größer ist, als die Höhe des Spacers-I.

In einer besonderen Variante der Erfindung wird der Spacer-I mit einer längs desselben verlaufenden Grube versehen und der 5 pastöse Spacer-II in diese Grube dispenst oder gedruckt. Durch diese Variante wird das Eindringen von Kleber (Spacer-II) in den Strömungskanal beim Aufsetzen des oberen Substrates auf des untere Substrat und beim nachfolgenden Verpressen sicher verhindert. Darüberhinaus lassen sich problemlos auch größere 10 Spacerhöhen realisieren.

Die flache Grube kann mit den üblichen Mitteln der Fotolithografie hergestellt werden.

15 Für die Herstellung der Spacer-I und der Abstandshalter bestehen unterschiedliche Möglichkeiten. So können die Spacer-I und die Abstandshalter mittels Siebdruck, oder Dispensieren auf das untere Substrat aufgebracht und anschließend gehärtet werden, wobei das Härteln beispielsweise durch Wärmeeinwirkung oder 20 durch Licht- bzw. UV-Bestrahlung vorgenommen werden kann.

Eine andere Möglichkeit besteht darin, die Spacer-I und die Abstandshalter auf dem unteren Substrat mittels fotolitografischer Verfahren herzustellen und anschließend durch Temperi 25 zu härteln. Vorzugsweise werden hierzu der Spacer-I und die Abstandshalter aus einem fotostrukturierbaren Resist, hergestellt, wobei die Restdicke die Höhe des Strömungskanales definiert. Fotolithografische Verfahren ermöglichen gegenüber dem Siebdruck eine geringere Kantenrauhigkeit und damit eine 30 größere Präzision, so dass feinere Strukturen hergestellt werden können.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, den Spacer-I und die Abstandshalter aus einer vorstrukturierten, wenigstens ein- 35 seitig klebenden Metall- oder Polymerfolie herzustellen und auf

das untere Substrat aufzukleben.

Für die Befestigung des oberen Substrates auf dem unteren Substrat, d. h. zum Herstellen der 3-D-Struktur, wird vorzugsweise 5 ein Klebstoff als Spacer-II auf der Basis von Epoxydharz oder Silikonkautschuk verwendet. Die Herstellung der Verbindung des oberen mit dem unteren Substrat kann unter Einwirkung von Druck und Wärme und/oder Licht- bzw. UV-Bestrahlung erfolgen.

10 Die der Erfindung zugrunde liegende Aufgabenstellung wird ferner durch eine 3-D-Mikrodurchflusszelle gelöst, die aus einem unteren und einem oberen Substrat besteht, wobei zwischen den Substraten ein mit fluidischen Durchkontaktierungen versehener Strömungskanal angeordnet ist, den ein mit Außenkontakten verbundenes Elektrodensystem durchdringt und die dadurch gekennzeichnet ist, dass wenigstens auf dem unteren Substrat den Strömungskanal definierende Spacer-I sowie zusätzliche Abstandshalter aus einem im wesentlichen nicht kompressiblen Material oder härtbaren Material vorgegebener 15 Höhe angeordnet sind, die mit dem unteren bzw. oberen Substrat irreversibel fest verbunden sind, und dass das obere Substrat mit dem unteren Substrat den Strömungskanal dicht verschließt, mittels einer pastösen, härtbaren Klebstoffschicht, einen Spacer-II bildend, verbunden ist.

25

In einer ersten Ausgestaltung der Erfindung erstreckt sich der Spacer-II beidseits außerhalb des Strömungskanales auf der Außenseite des Spacers-I, diesen parallel umfassend.

30 In einer zweiten Ausgestaltung der Erfindung ist in der Oberfläche des Spacers-I eine flache Grube zur Aufnahme eines pastösen Spacers-II eingearbeitet, wodurch während des Montagevorganges des oberen Substrates auf dem unteren Substrat das Eindringen von Kleber in den Strömungskanal sicher 35 verhindert wird.

Die Dicke der Spacer-I und der Abstandshalter muss gleich groß sein und sollte zwischen 10 µm und 1 mm in Abhängigkeit von der vorgesehenen Höhe des Strömungskanales liegen.

5

In Fortführung der Erfindung kann wenigstens eines der beiden Glassubstrate eine Dicke von 250 µm ... 1000 µm aufweisen und das andere 500 µm ... 1000 µm dick sein. So erhält der Verbund eine ausreichende mechanische Stabilität und ist zugleich für 10 den Einsatz hochauflösender Mikroskopie geeignet.

Das obere Substrat kann auch aus einer Kunststoff-Folie, beispielsweise einer Polymerfolie, mit einer Dicke von 170 µm bis 200 µm, bestehen.

15

Eine weitere Ausgestaltung der Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, dass der Bereich des Strömungskanales wenigstens im Wellenlängenbereich von 250 nm bis 450 nm optisch transparent ist. Dies kann einfach durch Auswahl geeigneter Materialien für 20 das untere und das obere Substrat realisiert werden.

Die Erfindung ist in einer weiteren besonderen Ausgestaltung dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens das obere oder das untere Substrat jeweils metallische Mikroelektroden aufweist, 25 die in einem vorgegebenen dreidimensionalen geometrischen Bezug zueinander stehen und dass das obere Substrat Face-down auf dem unteren Substrat montiert ist. Die Mikroelektroden des oberen Substrates sind mit Kontaktpads versehen und mit den Außenkontakte auf dem unteren Substrat mittels Leitkleber, 30 Leitgummi oder Lötpads elektrisch verbunden.

Die Mikroelektroden können aus einem Dünnfilmsystem, aus Platin, Gold, Tantal, Titan, Aluminium oder einem leitfähigen ITO (Indium-Tin-Oxid) bestehen.

35

In einer besonderen Ausgestaltung der Erfindung ist das Elektroden- und Anschlussystem auf dem oberen und dem unteren Substrat mittels eines anorganischen Isolatormateriales ganzflächig isoliert, wobei das Isolatormaterial im innen des 5 Strömungskanales, auf den Kontaktspads sowie auf den Kontakt-supports ausgespart ist, um eine ausreichende elektrische Kontaktierung an diesen Stellen zu ermöglichen.

Um eine durch das Polymer des Spacers-I - der den Strömungs-kanal bildet - bei Lichtanregung verursachte Eigenfluoreszenz während der optisch-mikroskopischen Detektion auszublenden, ist auf der Außenseite des oberen Substrates eine zumindest lichtundurchlässige Blende in der Weise angebracht, dass der Randbereich des Strömungskanales abgedeckt, jedoch dessen 15 zentraler Bereich freigehalten ist. Der besondere Vorteil einer solchen Blende ist, dass eine fluoreszenzbasierte Detektion an biologischen Zellen im Strömungskanal erfolgen kann, ohne dass die dabei gleichzeitig veranlasste Fluoreszenz der den Kanal begrenzenden Materialien einen störenden Einfluss ausüben 20 würde.

Die Blende kann vorteilhaft auch als Abschirmung von innen und außen für elektromagnetische und bioelektrische Wellen ausgebildet sein, wodurch sicher verhindert wird, dass eine 25 gegebenenfalls einwirkende elektromagnetische Strahlung einen negativen Einfluss auf die Zellen selbst und damit das Detektionsergebnis ausüben kann.

Im einfachsten Fall besteht die Blende aus Metall, wobei diese 30 auch aus einem fotolithografisch strukturierbaren Dünnfilm, z.B. aus Cu oder Al, bestehen kann.

Dieser Dünnfilm sollte zweckmäßigerweise ablösbar sein, so dass 35 im Bedarfsfall der Strömungskanal in gesamter Breite optisch untersucht werden kann.

Um die Ausbildung eines Kleberfilmes auf der Innenseite des Strömungskanales möglichst zu verhindern, ist in einer besonderen Fortführung der Erfindung der Spacer-I in seiner 5 Kontaktfläche mit einer Nut oder mit einer anderweitig längs desselben verlaufenden Vertiefung zur Aufnahme von Klebstoff während des Montageprozesses versehen.

In besonderen Fällen kann es wünschenswert sein, dass das obere 10 Substrat lösbar mit dem unteren Substrat verbunden ist. Für diesen Fall ist eine besondere Variante der Erfindung dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-I aus einem Fotoresist und der Spacer-II aus einem gedruckten Silikonkautschuk bestehen und nach dem Ausvulkanisieren das obere und das untere Substrat 15 kraftschlüssig, fluidisch dicht und reversibel miteinander verbunden sind. Dadurch lässt sich diese 3-D-Mikrodurchflusszelle nach Gebrauch wieder öffnen und bei Bedarf sterilisieren.

20 Eine weitere besondere Variante der Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, dass der fotolithografisch auf dem unteren Substrat hergestellte Spacer-I eine Breite aufweist, die im wesentlichen der Parallelanordnung von Spacer-I und Spacer-II entspricht und dass das obere Substrat durch Adhäsionskraft auf 25 dem unteren Substrat befestigt ist. Diese Variante der Erfindung ist allerdings nur für solche Fälle geeignet, in denen das obere Substrat keine Elektrodenstruktur enthält.

Die Erfindung soll nachfolgend an einem Ausführungsbeispiel 30 näher erläutert werden. In den zugehörigen Zeichnungen zeigen:

Fig. 1 eine schematische Draufsicht auf eine 3-D-Mikrodurchflusszelle;

35 Fig. 2 eine Sequenz der Herstellung des unteren Substrates

der 3-D-Mikrodurchflusszelle;

Fig. 3 die Montage-Sequenz zur Fertigstellung der 3-D-Mikro-  
durchflusszelle;

5

Fig. 4 eine Schnittdarstellung der 3-D-Mikrodurchflusszelle  
entsprechend Fig. 3 als Glas-Glas-Modul;

Fig. 5 eine Schnittdarstellung einer 3-D-Mikrodurchflusszelle  
10 mit Flip-Chip-Kontaktierung; und

Fig. 6 eine mit einer Cu-Blende versehene 3-D-Mikrodurch-  
flusszelle.

15 Aus der Zeichnungsfigur 1 ist eine erfindungsgemäße 3-D-Mikro-  
durchflusszelle ersichtlich, die aus einem unteren Substrat 1  
aus Glas mit einer Dicke von ca. 750  $\mu\text{m}$  und einem oberen  
Substrat 2 besteht. Das obere Substrat besteht im vorliegenden  
Fall ebenfalls aus Glas mit einer Dicke von etwa 150  $\mu\text{m}$ , wobei  
20 hier auch andere Materialien verwendet werden können, die im  
Wellenlängenbereich zwischen 250 ... 450 nm eine ausreichende  
Transparenz aufweisen. Zwischen beiden Substraten 1 und 2  
befindet sich ein Strömungskanal 3, der an seinen Enden jeweils  
25 mit einem fluidischen Durchkontakt 4 zur Zu- und Ableitung  
einer Flüssigkeit versehen ist. Der Strömungskanal 3 wird in  
seiner gesamten Längsausdehnung seitlich durch einen Spacer-I 5  
und einen weiteren Spacer-II 6 begrenzt, der sich beidseits  
außerhalb des Strömungskanals 3 neben dem Spacer-I erstreckt.

30 Weiterhin befindet sich auf dem oberen Substrat 2 und dem  
unteren Substrat 1 eine Elektrodenstruktur 7, die über Leit-  
bahnen 8 mit Außenkontakten 9 verbunden ist.

35 In Gegensatz zu den Leitbahnen 8 auf dem unteren Substrat 1  
enden die Leitbahnen 8 auf dem oberen Substrat 2 in Kontaktpads

10, die mittels Leitkleber oder Lötpads bzw.  $\mu$ -Balls (Mikrolötkugeln) 18 mit den Außenkontakte 9 auf dem unteren Substrat 1 elektrisch verbunden sind.

5 Ferner sind sämtliche Außenkontakte 9 auf dem unteren Substrat 1 in einem Kontaktsupport 11 zusammengefasst, der die Aufgabe einer zusätzlichen gegenseitigen Isolation hat.

10 Zur elektrostatischen Fixierung von Zellen 12 bzw. biologischen Partikeln o.dgl. an einem vorgegebenen Ort innerhalb des Strömungskanales 3 (vgl. Fig. 5) enthält die Elektrodenstruktur 7 Mikroelektroden 13, die jeweils auf dem unteren Substrat 1 und dem oberen Substrat 2 in den Strömungskanal hineinragen und dreidimensional exakt positioniert sind.

15 Zur Erzielung eines über das Substrat konstanten Spacerabstandes zwischen den Substraten 1, 2 sind weiterhin noch Abstandshalter 14 vorgesehen.

20 Um die Ausbildung der einzelnen Strukturen auf dem unteren Substrat 1 besser veranschaulichen zu können, zeigt Fig. 2 eine entsprechende Sequenz. Dazu wird das untere Glassubstrat 1 zunächst gebohrt, um später die erforderlichen fluidischen Durchkontakte 4 zum Strömungskanal 3 realisieren zu können. 25 Anschließend wird das untere Substrat 1 mit Hilfe der üblichen Dünnfilmtechnik und Fotolithografie mit der Elektrodenstruktur 7 und den Leitbahnen 8, sowie den Außenkontakte 9 versehen. Die gesamte Struktur wird anschließend ganzflächig mittels eines anorganischen Isolatormaterials 15 isoliert. Dieser 30 Isolator 15 wird anschließend im Bereich des künftigen Strömungskanales 3, sowie an den Außenkontakte 9 wieder entfernt, um wirksame elektrische Strukturen herstellen zu können.

Nachfolgend wird der Strömungskanal 3 auf dem unteren Substrat 35 1 ausgebildet, indem ein Spacer-I 5 aus einem Polymer auf dem

unteren Substrat 1 aufgebracht wird. Selbstverständlich kann der Spacer-I auch zusätzlich auf dem oberen Substrat 2 ausgebildet werden. Für die Herstellung des Spacers-I 5 kann ein hochviskoser positiv Fotoresist, ein negativ Trockenresist 5 oder ein mittels Siebdruck aufgebrachter Polymerfilm genutzt werden. Alle drei Varianten ermöglichen die Herstellung eines Spacers-I 5. Diese drei Varianten ermöglichen die Herstellung eines Spacers-I 5, der eine Dicke im Bereich von 10  $\mu\text{m}$  und 100  $\mu\text{m}$  aufweisen kann. Wichtig ist in jedem Falle, dass mit der 10 Dicke des Spacers-I 5 zugleich die Höhe des Strömungskanales 3 festgelegt wird.

Anschließend wird der Spacer-I 5 durch Wärmeeinwirkung oder UV-Strahlung gehärtet. Ganz wesentlich bei diesem Schritt ist, 15 dass der Spacer-I 5 nach dem Härten genau die Dicke aufweist, die später der Strömungskanal 3 besitzen soll.

Darauf hin wird der Spacer-II 6, den Spacer-I 5 umgebend, auf das untere Substrat 1, durch Drucken oder mit Hilfe eines 20 Dispensers aufgebracht. Die Dicke des Spacers-II 6 ist größer als die des Spacers-I 5. Als Spacer-II 6 wird in jedem Fall ein Kleber auf der Basis von Epoxydharz oder Silikonkautschuk verwendet.

25 Es ist auch möglich, in der Oberfläche des Spacers-I eine längs desselben verlaufende flache Grube mit Hilfe bekannter fotolithografischer Verfahren auszubilden und in diese den Spacer-II (Kleber) zu dispensen oder zu drucken. Die Tiefe der Grube liegt zwischen 10 - 35  $\mu\text{m}$ .

30

Das Verkleben des oberen mit dem unteren Substrat 1, 1 erfolgt dann in justierter Lage.

Der Vorteil dieser Variante besteht darin, dass auch Sandwich- 35 Systeme mit deutlich größerer Spacerhöhe über 20 - 50  $\mu\text{m}$

realisiert werden können.

Bei dem oberen Substrat 2 wird entsprechend Fig. 3a lediglich eine Elektrodenstruktur 7 auf gleiche Weise erzeugt wie auf dem unteren Substrat und über Leitbahnen mit Kontaktpads 10 verbunden. Auch diese Struktur wird anschließend mit einem organischen oder anorganischen elektrischen Isolatormaterial 15 ganzflächig isoliert, wobei anschließend die Elektrodenstruktur 7 im Bereich des künftigen Strömungskanales sowie der Kontaktpads 10 durch Entfernen des Isolatormaterials 15 wieder freigelegt werden.

Danach erfolgt die Flip-Chip-Montage entsprechend Fig. 3, indem das obere Substrat 2 Face-down exakt über dem unteren Substrat positioniert und anschließend aufgesetzt wird. Gleichzeitig wird Wärme zugeführt, um den Spacer-II 6 auszuhärten und somit die 3-D-Struktur wie in Fig. 1, 4, 5 dargestellt, herzustellen.

Um die nötigen elektrischen Kontakte zwischen den Kontaktpads 10 auf dem oberen Substrat und den Außenkontakten 9 auf dem unteren Substrat herstellen zu können, wird vor der Flip-Chip-Montage ein geeigneter Leitkleber 16 auf die Anschlüsse dispenst.

Zur Verhinderung des Eindringens von Klebstoff in den Strömungskanal 3 während des Montagevorganges, kann auf der Oberfläche des Spacers-I 5 eine längs desselben verlaufende, z. B. V-förmige Nut oder Grube eingearbeitet sein. Dies ist mittels der bekannten Verfahren der Fotolithografie problemlos möglich. Außerdem wird dadurch eine höhere Festigkeit der Gesamtstruktur erreicht.

Da schon die Kanalwandungen des Spacers-I 5 beim Beleuchten einer im Strömungskanal 3 räumlich fixierten Zelle 12 während der optischen Detektion eine störende Fluoreszenz erzeugen,

muss für die optisch hochauflösende Detektion an z.B. einem Immersionsobjektiv eines Mikroskopes eine geeignete Ausblendung der Eigenfluoreszenz des Spacermaterials erfolgen.

- 5 Um derartige Störungen auszuschließen, kann entsprechend Fig. 6 eine lichtundurchlässige Blende 17 vorgesehen werden, die den Rand des Strömungskanales 3 abdeckt und den zentralen Bereich freihält. Diese Blende 17 kann aus einem metallischen strukturierbaren und justierten Dünnpfilm hergestellt werden.
- 10 Um eine solche Blende ggf. reversibel zu gestalten, ist der Gebrauch eines leicht entfernbarer Schichtsystems sinnvoll, so dass bei Bedarf der gesamte Querschnitt des Strömungskanales 3 beobachtet werden kann.
- 15 Der besondere Vorteil einer solchen Blende 17 ist, dass eine flooreszenzbasierte Detektion an biologischen Zellen 12 im Strömungskanal 3 erfolgen kann, ohne dass die dabei gleichzeitig veranlasste Fluoreszenz der den Kanal 3 begrenzenden Materialien einen durch Streulicht verursachten störenden Einfluss ausüben würde. Ein weiterer Vorteil ist darin zu sehen, dass es durch die Blende 17 nicht mehr erforderlich ist, im optischen System einen zusätzliche Blende vorzusehen, was zu einer höheren Lichtstärke des optischen Systemes führt.
- 20
- 25 Die Blende 17 kann vorteilhaft auch als Abschirmung von innen und außen für elektromagnetische und bioelektrische Strahlung ausgebildet sein, wodurch sicher verhindert wird, dass regelmäßig vorhandener Elektrosmog einen negativen Einfluss auf die Detektion der Zellen ausüben kann.
- 30 Im einfachsten Fall kann die Blende 17 aus einem Metall gefertigt werden, wobei die Blende 17 auch aus einem fotolithografisch strukturierbaren Dünnpfilm, z.B. aus Cu, Al oder einem anderen Metall, bestehen kann.

Damit kann die Blende 17 einfach durch Ätzen ohne Beeinträchtigung der Mikrodurchflusszelle entfernt werden.

Für den Fall, dass lediglich Wert auf eine optische Abschirmung durch die Blende 17 gelegt wird, kann diese natürlich auch aus anderen Materialien, z.B. einem Kunststoff, gefertigt werden.

In besonderen Fällen kann es wünschenswert sein, dass das obere Substrat 1 mit dem unteren Substrat 2 lösbar verbunden ist. Für diesen Fall ist eine besondere Variante der Erfindung dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-II 6 aus Silikongummi auf den Spacer-I 5 aufgedruckt ist und nach dem Ausvulkanisieren das obere und das untere Substrat 2, 1 kraftschlüssig miteinander verbunden werden. Die kraftschlüssige Verbindung kann durch eine einfache Klemmvorrichtung realisiert werden.

Im einfachsten Fall, d.h. wenn das obere Substrat keine Elektrodenstruktur 7 aufweist, kann eine wesentliche Vereinfachung des Aufbaus der 3-D-Mikrodurchflusszelle erreicht werden, wenn der fotolithografisch auf dem unteren Substrat 1 hergestellte Spacer-I 5 eine Breite aufweist, die im wesentlichen der Parallelanordnung von Spacer-I 5 und Spacer-II 6 entspricht (Fig. 5), wobei das obere Substrat 2 lediglich durch Adhäsionskraft auf dem unteren Substrat 1 befestigt ist. Voraussetzung hierfür ist, dass die Kontaktfläche des ersten Spacers-I (5) mit dem oberen Substrat vollkommen eben ist.

Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle und  
3-D-Mikrodurchflusszelle

5

Bezugszeichenliste

- 10 1 unteres Substrat
- 2 oberes Substrat
- 3 Strömungskanal
- 4 fluidischer Durchkontakt
- 5 Spacer I
- 15 6 Spacer II
- 7 Elektrodenstruktur
- 8 Leitbahn
- 9 Außenkontakt
- 10 Kontaktpad
- 20 11 Kontaktsupport
- 12 Zelle
- 13 Mikroelektrode
- 14 Abstandshalter
- 15 Isolator
- 25 16 Leitkleber
- 17 Blende
- 18  $\mu$ -Ball

**Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle und  
3-D-Mikrodurchflusszelle**

5

**Patentansprüche**

1. Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle bestehend aus einem unteren und einem oberen Substrat, 10 zwischen denen ein Strömungskanal angeordnet ist, den eine mit Außenkontakten verbundene Elektrodenstruktur durchdringt, wobei wenigstens eines der Substrate zunächst mit einer Leitbahn- und Elektrodenstruktur und an den Enden des Strömungskanales mit Durchkontaktierungen zum Anschluss von 15 Flüssigkeitszu- und -abläufen versehen wird, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens auf dem unteren Substrat (1) den Strömungskanal (3) beidseits desselben definierende Spacer-I (5) sowie zusätzliche Abstandshalter (14) aus einem im wesentlichen nicht kompressiblen Material oder härtbarem Material vorgegebener 20 Höhe aufgebracht werden, die nach dem Aufbringen mit dem unteren bzw. oberen Substrat (1; 2) irreversibel fest verbunden werden, dass außerhalb des Strömungskanales ein pastöser Klebstoff als Spacer-II (6) gleichmäßiger Dicke 25 aufgetragen wird und dass anschließend das obere Substrat (2) auf dem unteren Substrat (1) positioniert und unter Kraft- und Wärmeeinwirkung mit diesem verbunden wird, wobei gleichzeitig der Strömungskanal (3) abgedichtet wird.
  
- 30 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-II (6) unmittelbar neben dem Spacer-I (5), diesen parallel umfassend, aufgetragen wird, wobei die Dicke des Spacers-II (6) vor der Montage größer ist, als die Höhe des Spacers-I (5).

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass in die Oberfläche des Spacers-I (5) eine längs desselben verlaufende flache Grube eingearbeitet und dass der pastöse Spacer-II (6) in diese Grube dispenst oder gedruckt wird.

4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die flache Grube durch fotolithografische Verfahren hergestellt wird.

10

5. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-I (5) und die Abstandshalter (14) mittels Siebdruck wenigstens auf das untere Substrat (1) aufgebracht und anschließend gehärtet werden.

6. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Härteln durch Wärmeeinwirkung und/oder durch Licht-Bestrahlung, wie UV-Bestrahlung, vorgenommen wird.

7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass Spacer-I (5) und Abstandhalter (14) wenigstens auf dem unteren Substrat (1) mittels fotolithografischer Verfahren, oder durch Dispensieren hergestellt und anschließend durch Temperiern gehärtet werden.

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-I (5) und die Abstandshalter (14) aus einem fotostrukturierbaren Resist hergestellt werden und die Restdicke die Höhe des Strömungskanales (3) definiert.

9. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass Spacer-I (5) und Abstandhalter

30

35

(14) aus einer vorstrukturierten, wenigstens einseitig klebenden Metall- oder Polymerfolie hergestellt und wenigstens auf das untere Substrat (1) aufgeklebt werden.

5 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass die Herstellung der Verbindung des oberen Substrates (2) mit dem unteren Substrat unter Einwirkung von Druck und Wärme und/oder UV-Strahlung erfolgt.

10

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass ein Klebstoff als Spacer-II (6) auf der Basis von Epoxydharz oder Silikonkautschuk verwendet wird.

15

12. 3-D-Mikrodurchflusszelle, hergestellt nach dem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, bestehend aus einem unteren und einem oberen Substrat, wobei zwischen den Substraten ein mit fluidischen Durchkontakten versehener Strömungskanal angeordnet ist, den ein mit Außenkontakten verbundenes Elektrodensystem durchdringt, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass wenigstens auf dem unteren Substrat (1) den Strömungskanal (3) definierende Spacer-I (5) sowie zusätzliche Abstandshalter (14) aus einem im wesentlichen nicht kompressiblen Material, oder härtbarem Material, vorgegebener Höhe angeordnet sind, die mit dem unteren bzw. oberen Substrat (1; 2) irreversibel fest verbunden sind, dass das obere Substrat (2) mit dem unteren Substrat (1), den Strömungskanal (3) dicht verschließend, mittels einer pastösen, härtbaren Klebstoffschicht als Spacer-II (6) verbunden ist.

13. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach Anspruch 12, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass sich der Spacer-II (6) beidseits außerhalb des Strömungskanales (3) auf der Au-

35

Benseite der Spacer-I (5) streifenförmig längs desselben erstreckt.

14. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass in der Oberfläche des Spacers-I (5) eine flache Grube zur Aufnahme eines pastösen Spacers-II (6) eingearbeitet ist

5 15. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach Anspruch 12 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Dicke der Spacers-I (5) und der Abstandshalter (14) gleich ist und zwischen  $\sim 10 \mu\text{m}$  und  $\sim 100 \mu\text{m}$  liegt.

10 16. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach den Ansprüchen 12 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens das untere Substrat (1) aus Glas besteht und eine Dicke von  $\sim 250 \mu\text{m} \dots 1000 \mu\text{m}$  aufweist.

15 17. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach einem der Ansprüche 10 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass das obere Substrat (2) aus einer Kunststoff-Folie besteht.

20 18. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass das obere Substrat (2) aus einer Polymerfolie mit einer Dicke von 170...200  $\mu\text{m}$  besteht.

25 19. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach den Ansprüchen 12 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass der Bereich des Strömungskanals (3) wenigstens im Wellenlängenbereich von 250 bis 450 nm optisch transparent ist

30 20. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach einem der Ansprüche 12 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens das obere Substrat (2) oder das untere Substrat

(1) metallische Mikroelektroden (13) enthält, die in einem vorgegebenen geometrischen Bezug zueinander stehen und dass das obere Substrat (2) Face-down auf dem unteren Substrat (1) montiert ist.

5

21. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach Anspruch 20, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass die Mikroelektroden (13) des oberen Substrates (2) mit Kontaktpads (10) versehen und mit den Außenkontakte (9) auf dem unteren Substrat (1) durch Leitkleber, Leitgummi oder Lötpads elektrisch verbunden sind.

10

22. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach einem der Ansprüche 12 bis 21, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass die Mikroelektroden (13) aus Platin, Gold, Tantal, Titan, Aluminium oder ITO bestehen.

15

23. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach einem der Ansprüche 12 bis 22, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass das Elektroden- und Anschlussystem auf dem oberen und dem unteren Substrat (2; 1) mittels eines organischen oder anorganischen elektrischen Isolatormaterials ganzflächig isoliert ist, wobei das Isolatormaterial in Inneren des Strömungskanales, auf den Kontaktpads sowie auf den Kontaktspalten ausgespart ist.

20

25

24. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach einem der Ansprüche 12 bis 232, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass auf der Außenseite des oberen Substrates (2) eine lichtundurchlässige Blende (17) in der Weise aufgebracht ist, dass der Randbereich des Strömungskanales abgedeckt, jedoch dessen zentraler Bereich freigehalten ist.

30

35

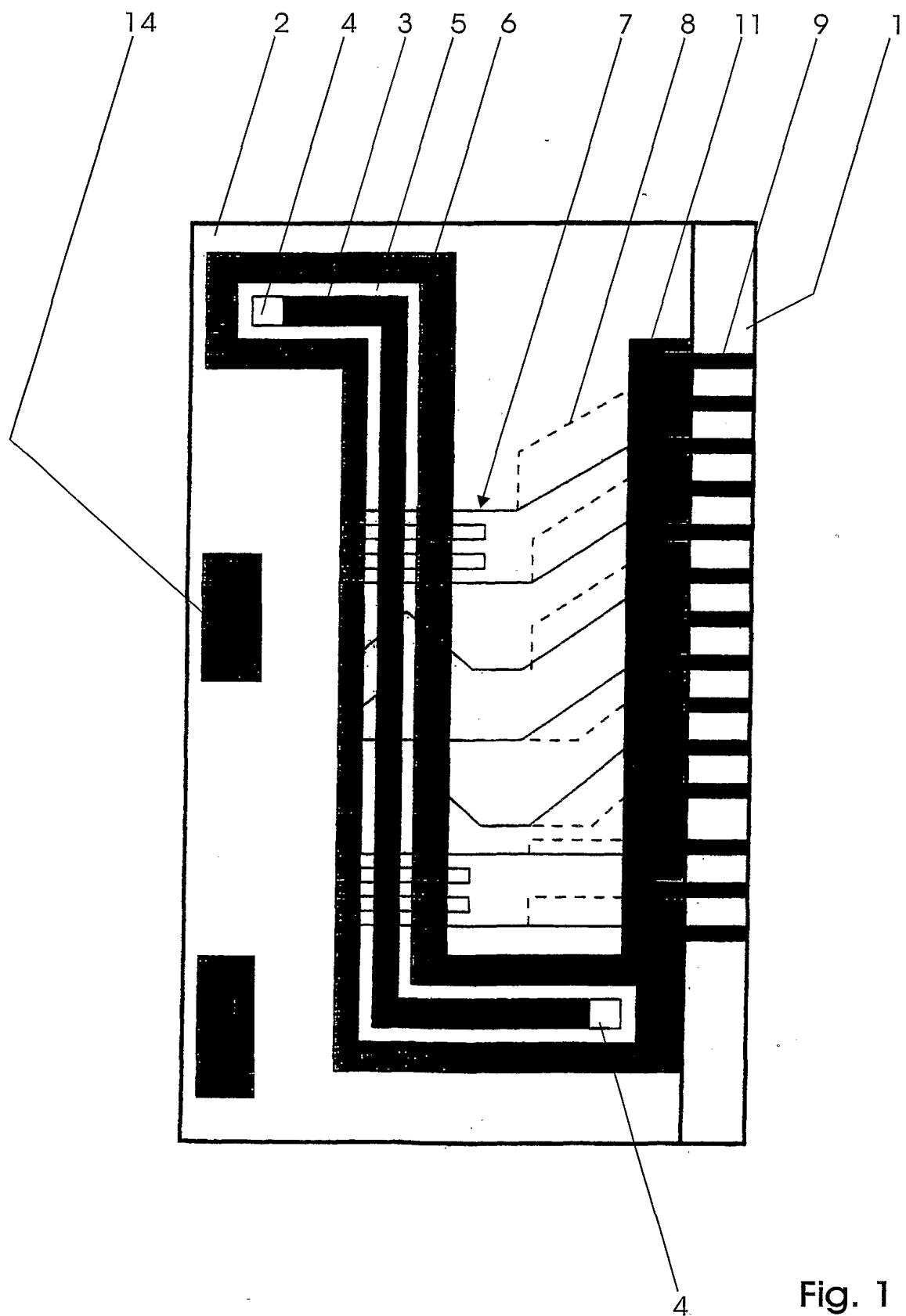
25. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach Anspruch 24, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass die Blende (17) als

Abschirmung der suspensierten Zellen vor der Einwirkung elektromagnetischer Wellen ausgebildet ist.

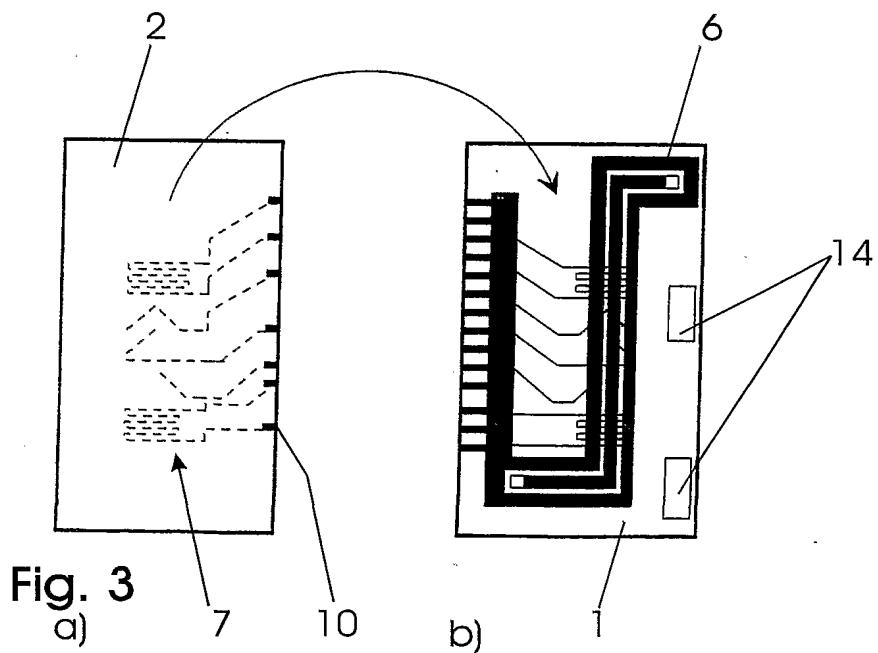
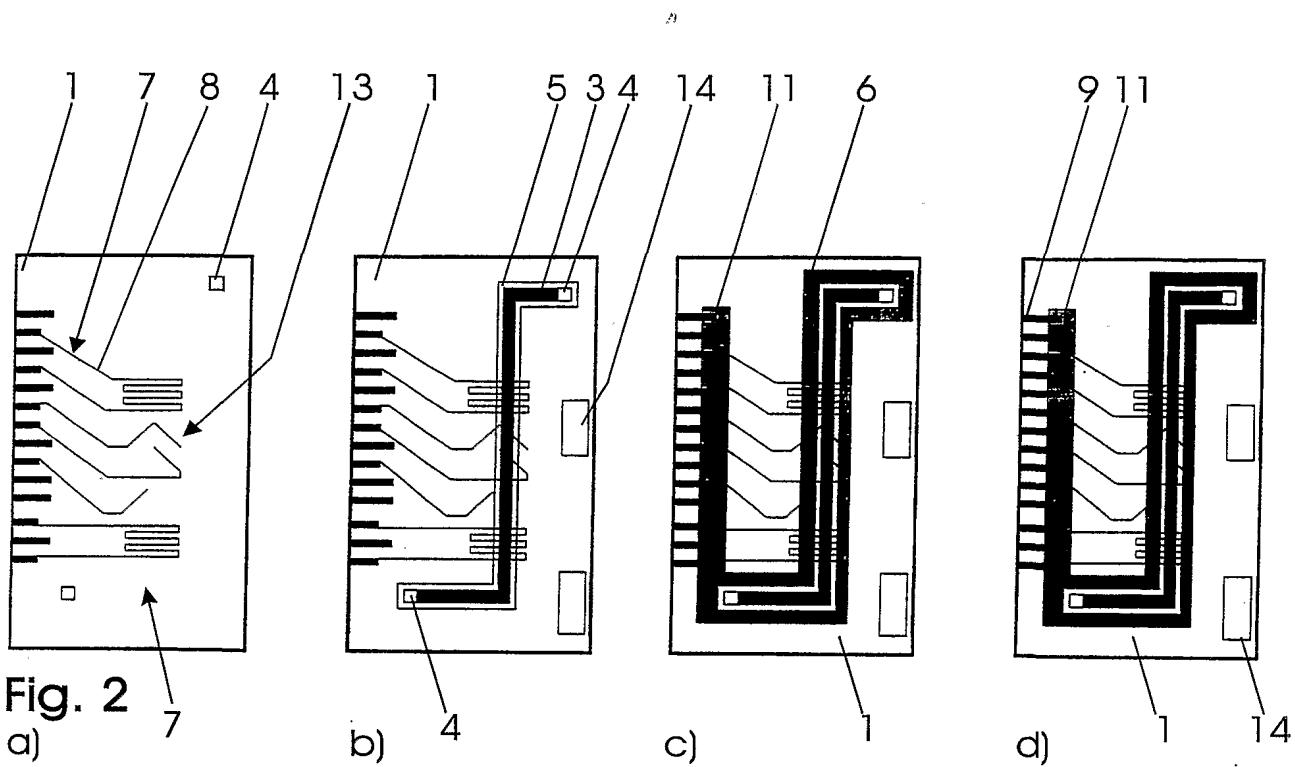
26. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass die Blende (17) aus Metall besteht.  
5
27. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, dass die Blende (17) aus einem fotolithografisch strukturierbaren Cu- oder Al-Dünnfilm besteht.  
10
28. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach einem der Ansprüche 25 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass die Blende (17) ablösbar ist.  
15
29. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach einem der Ansprüche 12 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass in den Spacer-I (5) eine Nut oder anderweitige längs desselben verlaufende Vertiefung zur Aufnahme von Klebstoff eingearbeitet ist.  
20
30. 3-d-Mikrodurchflusszelle nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-I (5) aus einem Fotoresist und der Spacer-II (6) aus einem gedruckten Silikonkautschuk bestehen und nach dem Ausvulkanisieren kraftschlüssig, fluidisch dicht und reversibel miteinander verbunden sind.  
25
31. 3-D-Mikrodurchflusszelle nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass der fotolithografisch auf dem unteren Substrat (1) hergestellte Spacer-I (5) eine Breite aufweist, die im wesentlichen der Parallelanordnung von Spacer-I (5) und Spacer-II (6) entspricht und dass das obere Substrat (2) durch Adhäsionskraft auf dem unteren  
35

Substrat (1) befestigt ist.

1/4



2/4



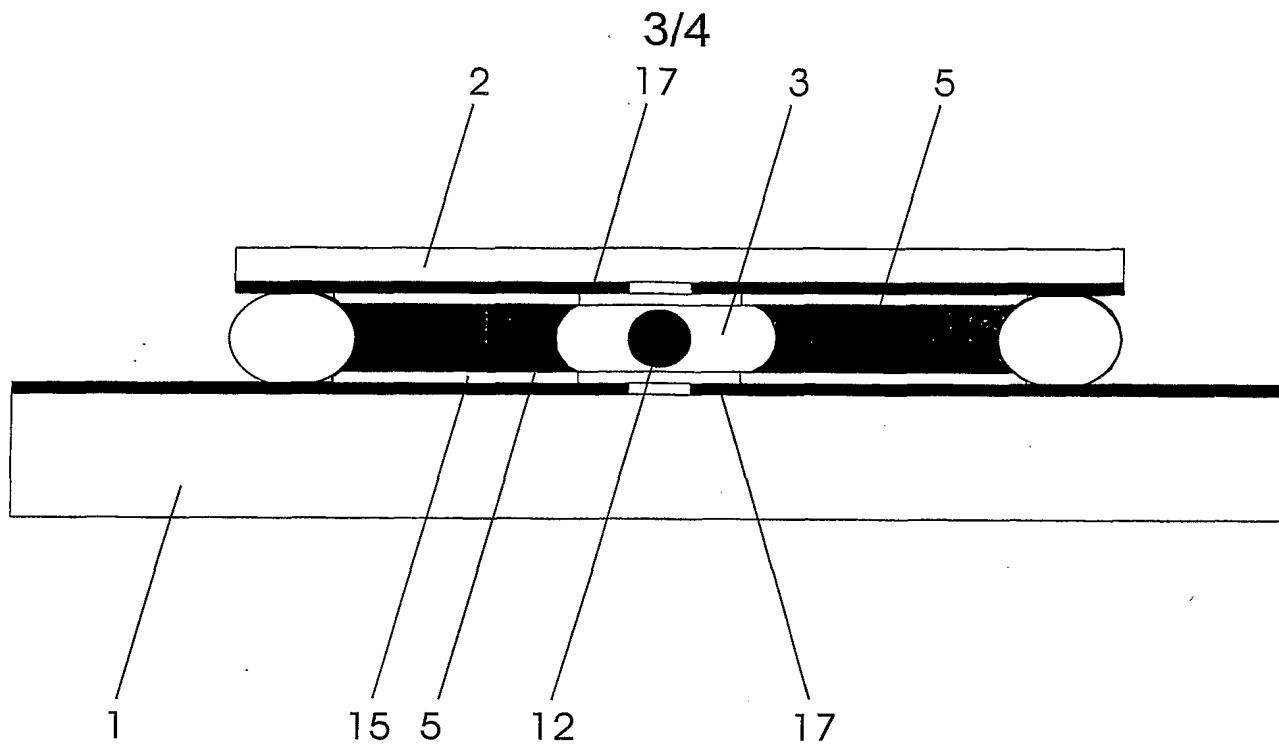


Fig. 5

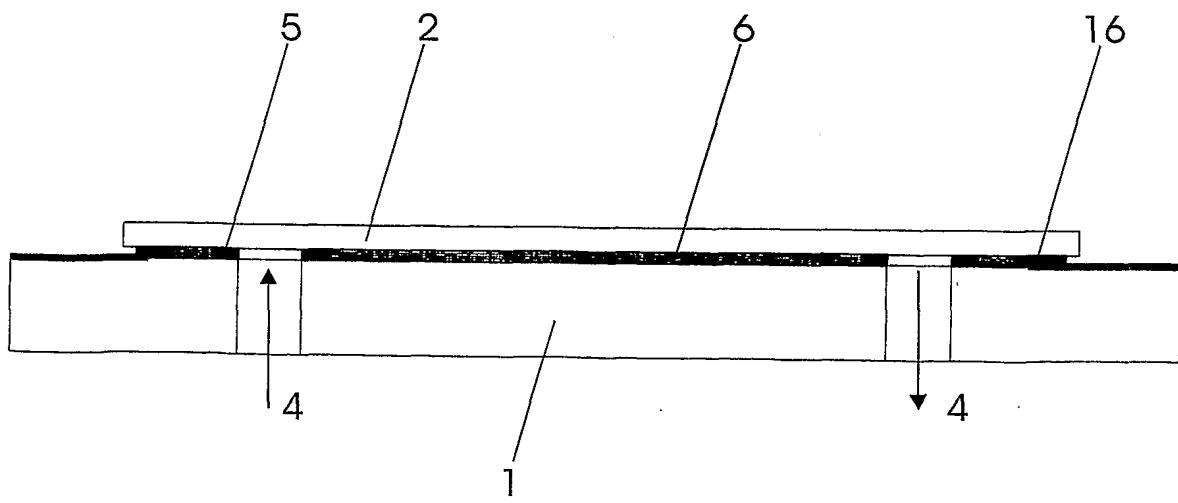


Fig. 4

4/4

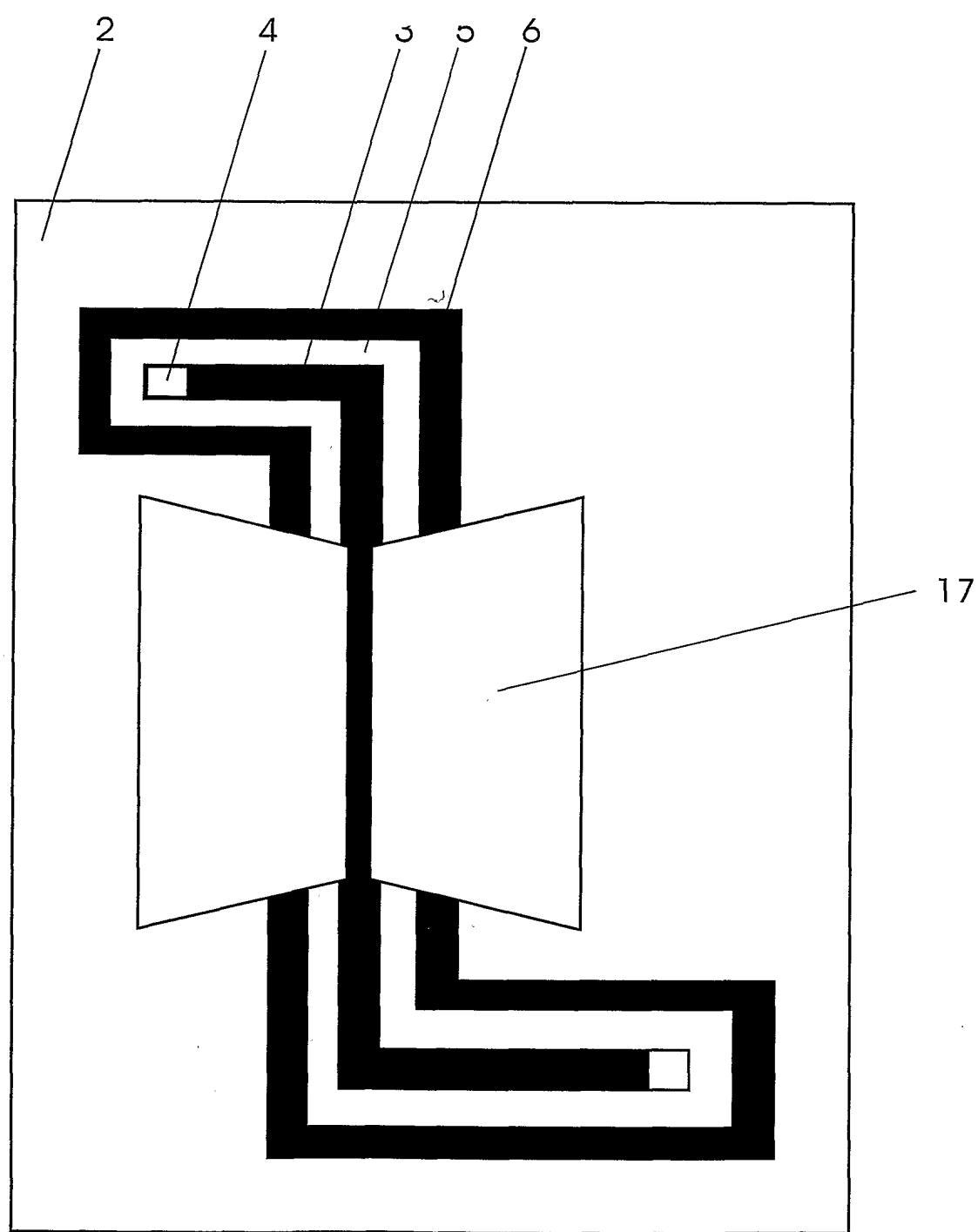


Fig. 6

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte  
ion No  
PC, D, U, U324

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 G01N27/447 B01L3/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 G01N B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, INSPEC, COMPENDEX, BIOSIS

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MUELLER T ET AL: "3-D MICROELECTRODE SYSTEM FOR HANDLING AND CAGING SINGLE CELLS AND PARTICLES" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, vol. 14, 15 March 1999 (1999-03-15), pages 247-256, XP000912020 ISSN: 0956-5663 page 249 -page 250; figure 3	1-31
A	WO 00 17630 A (RABBITT RICHARD D ;UNIV UTAH RES FOUND (US); FRAZIER A BRUNO (US);) 30 March 2000 (2000-03-30) page 18, line 30 -page 20, line 15	1-31

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 December 2001

Date of mailing of the international search report

16/01/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mason, W

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte	Application No
PCT/DE 01/03324	

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JONES H L ET AL: "Hydrodynamic ECL (electrogenerated chemiluminescence)" IBM TECHNICAL DISCLOSURE BULLETIN, OCT. 1979, USA, vol. 22, no. 5, page 2065 XP002186348 ISSN: 0018-8689 figure 1 ---	1-31
A	US 4 908 112 A (PACE SALVATORE J) 13 March 1990 (1990-03-13) column 6, line 25 -column 8, line 10 ---	1-31
A	US 6 045 676 A (MATHIES RICHARD A ET AL) 4 April 2000 (2000-04-04) column 3, line 20 -column 5, line 60 ---	1-31
A	US 5 520 787 A (HANAGAN TED J ET AL) 28 May 1996 (1996-05-28) column 8, line 20 -column 9, line 30 ---	1-31
A	US 5 141 868 A (SHANKS IAN A ET AL) 25 August 1992 (1992-08-25) column 6, line 50 -column 10, line 20 ---	1-31
A	DE 37 39 333 A (MESSERSCHMITT BOELKOW BLOHM) 1 June 1989 (1989-06-01) claims 1,2 -----	1-31

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int	tion No
PCT/DE 01/03324	

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 0017630	A	30-03-2000	US	6169394 B1		02-01-2001
			AU	6149999 A		10-04-2000
			WO	0017630 A1		30-03-2000
US 4908112	A	13-03-1990	NONE			
US 6045676	A	04-04-2000	US	5906723 A		25-05-1999
			AU	714163 B2		23-12-1999
			AU	4090597 A		19-03-1998
			CN	1235674 A		17-11-1999
			EP	0922218 A1		16-06-1999
			WO	9809161 A1		05-03-1998
US 5520787	A	28-05-1996	AU	1911795 A		29-08-1995
			CA	2179309 A1		17-08-1995
			EP	0752099 A1		08-01-1997
			JP	9509485 T		22-09-1997
			WO	9522051 A1		17-08-1995
US 5141868	A	25-08-1992	AT	62752 T		15-05-1991
			AT	52856 T		15-06-1990
			AT	41526 T		15-04-1989
			AT	143289 T		15-10-1996
			AU	2967289 A		25-05-1989
			AU	583040 B2		20-04-1989
			AU	4491085 A		10-01-1986
			AU	588245 B2		14-09-1989
			AU	4491185 A		10-01-1986
			AU	581669 B2		02-03-1989
			AU	4491385 A		10-01-1986
			CA	1231136 A1		05-01-1988
			CA	1246891 A1		20-12-1988
			CA	1261256 A1		26-09-1989
			DE	3568874 D1		20-04-1989
			DE	3577748 D1		21-06-1990
			DE	3582532 D1		23-05-1991
			DE	3588124 D1		31-10-1996
			DE	3588124 T2		20-02-1997
			EP	0171148 A1		12-02-1986
			EP	0170375 A2		05-02-1986
			EP	0170376 A1		05-02-1986
			EP	0422708 A2		17-04-1991
			WO	8600135 A1		03-01-1986
			WO	8600141 A1		03-01-1986
			WO	8600138 A1		03-01-1986
			JP	3010902 B		14-02-1991
			JP	61502418 T		23-10-1986
			JP	2527933 B2		28-08-1996
			JP	61502419 T		23-10-1986
			JP	2024459 B		29-05-1990
			JP	61502420 T		23-10-1986
			US	4978503 A		18-12-1990
			US	4810658 A		07-03-1989
DE 3739333	A	01-06-1989	DE	3744764 A1		01-06-1989
			DE	3739333 A1		01-06-1989

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inte  es Aktenzeichen

PCT/DE 01/03324

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 GO1N27/447 B01L3/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole )  
IPK 7 GO1N B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, INSPEC, COMPENDEX, BIOSIS

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>o</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	MUELLER T ET AL: "3-D MICROELECTRODE SYSTEM FOR HANDLING AND CAGING SINGLE CELLS AND PARTICLES" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, Bd. 14, 15. März 1999 (1999-03-15), Seiten 247-256, XP000912020 ISSN: 0956-5663 Seite 249 -Seite 250; Abbildung 3 ---	1-31
A	WO 00 17630 A (RABBITT RICHARD D ;UNIV UTAH RES FOUND (US); FRAZIER A BRUNO (US);) 30. März 2000 (2000-03-30) Seite 18, Zeile 30 -Seite 20, Zeile 15 ---	1-31 -/-

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- <sup>o</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- <sup>"A"</sup> Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- <sup>"E"</sup> älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- <sup>"L"</sup> Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- <sup>"O"</sup> Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- <sup>"P"</sup> Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- <sup>"T"</sup> Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- <sup>"X"</sup> Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- <sup>"Y"</sup> Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist
- <sup>"&"</sup> Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
27. Dezember 2001	16/01/2002
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Mason, W

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In	s Aktenzeichen
Fu/1/01	01/03324

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>o</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	JONES H L ET AL: "Hydrodynamic ECL (electrogenerated chemiluminescence)" IBM TECHNICAL DISCLOSURE BULLETIN, OCT. 1979, USA, Bd. 22, Nr. 5, Seite 2065 XP002186348 ISSN: 0018-8689 Abbildung 1 ---	1-31
A	US 4 908 112 A (PACE SALVATORE J) 13. März 1990 (1990-03-13) Spalte 6, Zeile 25 -Spalte 8, Zeile 10 ---	1-31
A	US 6 045 676 A (MATHIES RICHARD A ET AL) 4. April 2000 (2000-04-04) Spalte 3, Zeile 20 -Spalte 5, Zeile 60 ---	1-31
A	US 5 520 787 A (HANAGAN TED J ET AL) 28. Mai 1996 (1996-05-28) Spalte 8, Zeile 20 -Spalte 9, Zeile 30 ---	1-31
A	US 5 141 868 A (SHANKS IAN A ET AL) 25. August 1992 (1992-08-25) Spalte 6, Zeile 50 -Spalte 10, Zeile 20 ---	1-31
A	DE 37 39 333 A (MESSERSCHMITT BOELKOW BLOHM) 1. Juni 1989 (1989-06-01) Ansprüche 1,2 -----	1-31

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Inte	Aktenzeichen
PCT/DE	J1/03324

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0017630	A	30-03-2000	US	6169394 B1		02-01-2001
			AU	6149999 A		10-04-2000
			WO	0017630 A1		30-03-2000
US 4908112	A	13-03-1990	KEINE			
US 6045676	A	04-04-2000	US	5906723 A		25-05-1999
			AU	714163 B2		23-12-1999
			AU	4090597 A		19-03-1998
			CN	1235674 A		17-11-1999
			EP	0922218 A1		16-06-1999
			WO	9809161 A1		05-03-1998
US 5520787	A	28-05-1996	AU	1911795 A		29-08-1995
			CA	2179309 A1		17-08-1995
			EP	0752099 A1		08-01-1997
			JP	9509485 T		22-09-1997
			WO	9522051 A1		17-08-1995
US 5141868	A	25-08-1992	AT	62752 T		15-05-1991
			AT	52856 T		15-06-1990
			AT	41526 T		15-04-1989
			AT	143289 T		15-10-1996
			AU	2967289 A		25-05-1989
			AU	583040 B2		20-04-1989
			AU	4491085 A		10-01-1986
			AU	588245 B2		14-09-1989
			AU	4491185 A		10-01-1986
			AU	581669 B2		02-03-1989
			AU	4491385 A		10-01-1986
			CA	1231136 A1		05-01-1988
			CA	1246891 A1		20-12-1988
			CA	1261256 A1		26-09-1989
			DE	3568874 D1		20-04-1989
			DE	3577748 D1		21-06-1990
			DE	3582532 D1		23-05-1991
			DE	3588124 D1		31-10-1996
			DE	3588124 T2		20-02-1997
			EP	0171148 A1		12-02-1986
			EP	0170375 A2		05-02-1986
			EP	0170376 A1		05-02-1986
			EP	0422708 A2		17-04-1991
			WO	8600135 A1		03-01-1986
			WO	8600141 A1		03-01-1986
			WO	8600138 A1		03-01-1986
			JP	3010902 B		14-02-1991
			JP	61502418 T		23-10-1986
			JP	2527933 B2		28-08-1996
			JP	61502419 T		23-10-1986
			JP	2024459 B		29-05-1990
			JP	61502420 T		23-10-1986
			US	4978503 A		18-12-1990
			US	4810658 A		07-03-1989
DE 3739333	A	01-06-1989	DE	3744764 A1		01-06-1989
			DE	3739333 A1		01-06-1989